

**METHOD FOR DIGITALIZING INTERMOLECULAR INTERACTION FROM WAVEFORM DATA****Publication number:** JP2003279486 (A)**Publication date:** 2003-10-02**Inventor(s):** SHIMURA KIYOHITO; UCHIYAMA NOBORU; KASAI KENICHI**Applicant(s):** SHIMURA KIYOHITO**Classification:**

**- international:** G01N21/64; G01N21/27; G01N27/447; G01N33/566; G01N35/00; G01N21/64; G01N21/25; G01N27/447; G01N33/566; G01N35/00; (IPC1-7): G01N21/64; G01N21/27; G01N27/447; G01N33/566; G01N35/00

**- European:****Application number:** JP20020084852 20020326**Priority number(s):** JP20020084852 20020326**Abstract of JP 2003279486 (A)**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To solve a problem that when the degree of an interaction among molecules or molecule aggregations is digitalized by variation of waveform data, a conventional analysis method causes an error when the concentration or volume of a measurement sample changes, or the sensitivity of a sensor changes from measurement to measurement. ; **SOLUTION:** By viewing the variation of the waveform data due to the interaction of molecules or molecule aggregations as variation of moment, the degree of the interaction can relatively easily and correctly be digitalized even if the concentration or volume of a sample changes, or the sensitivity of a sensor changes from measurement to measurement. ; **COPYRIGHT:** (C)2004,JPO

---

Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2003-279486  
(P2003-279486A)

(43) 公開日 平成15年10月2日 (2003.10.2)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	F 2 G 0 4 3
21/27		21/27	Z 2 G 0 5 8
27/447		33/566	2 G 0 5 9
33/566		35/00	A
35/00		27/26	3 2 5 D
		審査請求 未請求 請求項の数 3	OL (全 7 頁)
(21) 出願番号	特願2002-84852 (P2002-84852)	(71) 出願人	302016853 志村 清仁 神奈川県津久井郡津久井町又野297-6
(22) 出願日	平成14年3月26日 (2002.3.26)	(72) 発明者	志村 清仁 神奈川県津久井郡津久井町又野297-6
		(72) 発明者	内山 昇 東京都府中市住吉町1-24-19
		(72) 発明者	笠井 献一 神奈川県津久井郡城山町若葉台1-3-12
		Fターム (参考)	2G043 AA06 CA01 EA01 JA08 NA01 2G058 GA01 GD00 2G059 AA01 BB08 EE01 EE12 HH03 MM01

(54) 【発明の名称】 波形データから分子間の相互作用を数値化する方法

(57) 【要約】

【課題】 波形データの変化によって分子または分子集合体の相互作用の程度を数値化しようとする場合に、測定試料の濃度や量が変化したり、検出器の感度が測定ごとに変化する場合には、従来の解析方法は誤差を生じやすい。

【解決手段】 分子または分子集合体の相互作用による波形データの変化をモーメントの変化としてとらえることにより、試料の濃度や量が変化したり、検出器の感度が測定ごとに変化する場合においても、相互作用の程度を比較的容易にかつ正確に数値化することができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の(1)から(3)の行程を備えた、横軸の数値に対する信号強度の変化を示す波形データから、分子または分子集合体の相互作用を数値化する方法。

(1) 分子または分子集合体であるAを遊離の状態を含む試料について、Aの波形データを取得する行程。

(2) Aと、Aに親和力を有する分子または分子集合体であるBの両者を含む試料について、Aの波形データを取得する行程。

(3) 上記の2つの波形データについて、横軸の同一の領域におけるモーメントをそれぞれ求め、その差によってAとBの相互作用を数値化する行程。

【請求項2】 次の(1)から(3)の行程を備えた、横軸の数値に対する信号強度の変化を示す波形データから、分子または分子集合体の結合平衡定数を決定する方法。

(1) 分子または分子集合体であるAを遊離の状態を含む試料について、Aの波形データを取得する行程。

(2) Aと、Aに親和力を有する分子または分子集合体であるBの両者を含む試料について、Bの濃度の濃度を変えて、複数のAの波形データを取得する行程。

(3) 上記の行程で得た波形データについて、横軸の同一の領域におけるモーメントをそれぞれ求め、次に行程(1)で得た波形データのモーメントと、行程

(2)で得た各波形データのモーメントの差を求め、こうして得られたモーメントの差と各試料中の遊離型のBの濃度との関係から、AとBの結合平衡定数を決定する行程。

【請求項3】 次の(1)から(3)の行程を備えた、ある分子または分子集合体が、別の2種の分子または分子集合体の相互作用を増強または減弱する程度を数値化する方法。

(1) 分子または分子集合体であるAと、Aに親和力を有する分子または分子集合体であるBの両者を含む試料について、Aの波形データを取得する行程。

(2) AとBの両者を含む試料に、別の第3の分子または分子集合体であるCを加えた試料について、Aの波形データを取得する行程。

(3) 上記の2つの波形データについて、横軸の同一の領域内におけるモーメントをそれぞれ求め、その差を用いて、AとBの相互作用をCが増強または減弱する程度を数値化する行程。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、2種の分子または分子集合体の相互作用の程度を数値化し、または結合平衡定数を決定し、または別の第3の分子または分子集合体が2者の相互作用を増強または減弱する程度を数値化するための波形データ解析法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 分子または分子集合体であるAと、別の分子または分子集合体であるBの間に複合体ABが形成される相互作用において、AとBを含む試料の測定によって波形データが得られた場合、その波形データが遊離型のAと結合型のAそれぞれの波形の重み付きの平均として表されるならば、波形データの中の特定の横軸の値における信号強度が、遊離型のAのみを含む試料とどれだけ差があるかをもって、AとBの相互作用が数値化される。上記の方法によってAとBの相互作用が数値化される場合に、Aの波形データの中の特定の横軸の値における信号強度が、Bの濃度の変化によってどのように変わるかを解析することにより、AとBの結合平衡定数が決定される。さらに、上記の方法によってAとBの相互作用を数値化される場合には、AとBの混合液に、Cを加えることにより、CがAとBの相互作用を増強または減弱することを知ることができる。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】 遊離型波形データの中の特定の横軸の値における信号強度の増減をもって相互作用を数値化しようとする場合には、波形データを与える分子または分子集合体の濃度や試料の量にバラツキがある場合や、検出系の感度が測定毎に変化する場合に、それらが信号強度に直接反映されるため、相互作用の数値化の際に誤差を発生する。また、波形データにノイズがある場合にも、単一の測定点における信号強度に基づく方法は、相互作用の数値化において誤差を発生しやすい。また、従来の波形データ解析法によって、2種の分子または分子複合体の結合平衡定数を決定しようとする場合にも、上で述べた問題により、適用が困難であったり、誤差を発生しやすい。また、従来の波形データ解析法によって、2種の分子または分子複合体の相互作用を、第3の分子または分子複合体が増強または減弱することを数値化しようとする場合にも、上で述べた問題により、適用が困難であったり、誤差を発生しやすい。

## 【0004】

【問題を解決するための手段】 本発明は前記従来技術の課題に鑑みなされたものであり、その目的は相互作用に伴う波形データの変化を解析するにあたって、測定物質の濃度や試料量の変化によって信号強度の総和が変化する場合や、検出系の感度が測定毎に変化する場合や、波形データにノイズが含まれる場合であっても、比較的簡単に波形データから相互作用を正確に数値化する方法を提供することにある。前記目的を達成するために本発明は、分子または分子集合体であるAとBの相互作用を解析するにあたり、Bとの結合によって変化するAの波形データについて、遊離型のAのみを含む試料について得たAの波形データと、AとBを混合することによって生じた遊離型および結合型のAの両者を含む試料について得たAの波形データのそれぞれについて、横軸の同一

の領域におけるモーメントを求め、その差によって相互作用の程度を数値化する。ここにおいて、波形データのモーメント  $M$  とは、次式で表されるものである。すなわち、

【数1】

$$M = \int_{x=a}^{x=b} x \cdot I(x) dx / \int_{x=a}^{x=b} I(x) dx$$

ここで、 $x$  は波形データの横軸の値であって、 $I(x)$  は横軸の値  $x$  における信号強度である。 $a$  と  $b$  はモーメントを求めようとする横軸の領域の最小値と最大値である。等間隔の横軸の値をもつ連続的な点によって構成される波形データについては、モーメントを次式によって計算できる。

【数2】

$$M = \sum_{x=a}^b x \cdot I(x) / \sum_{x=a}^b I(x)$$

波形データのモーメントは、波形データから容易に計算される。またモーメントは波形データに含まれる信号強度の総量には依存しないので、 $A$  の濃度あるいは量が変化しても、結合平衡に影響を及ぼさない範囲であればモーメントは変化せず、 $A$  の濃度あるいは量についての実験誤差の影響を受けにくい。また、検出系の感度が測定毎に変化して信号強度の総量が変化しても、モーメントは変化しないので、測定系の感度の変化の影響を受けにくい。またモーメントは波形データ全体の信号強度に基づいて計算されるため、ノイズの影響が平均化され、最小化される。

【0005】  $A$  と  $B$  の結合定数を決定する場合においても、 $B$  の異なる濃度における  $A$  の波形データのモーメントの変化から、 $B$  の各濃度における  $A$  と  $B$  の相互作用を数値化し、それに基づいて  $A$  と  $B$  の結合平衡定数  $K$  を決定することができる。ここにおいて、結合平衡定数  $K$  とは、複合体  $AB$  を生成する反応、

【数3】



において、式  $K = [AB] / [A] \cdot [B]$  によって定義されるものである。この式において、 $[A]$ 、

$[B]$ 、 $[AB]$  は、それぞれ試料中の  $A$ 、 $B$ 、 $AB$  の濃度を表す。 $B$  の濃度  $[B]$  における波形データのモーメントの変化を  $\Delta M$ 、 $B$  の無限大濃度に対応する波形データのモーメントの最大変化量を  $\Delta M_{\max}$  とするとき、 $\Delta M$  と  $[B]$  の間には、

【数4】

$$\Delta M = \frac{\Delta M_{\max} \cdot [B]}{\frac{1}{K} + [B]}$$

の関係が有り、いくつか異なる  $[B]$  において  $\Delta M$  を実験によって求め、実験結果を上式にフィッティングさせ

ることにより、 $K$  と  $\Delta M_{\max}$  を同時に決定することができる。この場合にも、モーメントは波形データに含まれる信号強度の総量には依存しないので、 $A$  の濃度あるいは量が変化しても、結合平衡に影響を及ぼさない範囲であればモーメントは変化せず、 $A$  の濃度あるいは量についての実験誤差の影響を受けにくい。また、検出系の感度が測定毎に変化して信号強度の総量が変化しても、モーメントは変化しないので、測定系の感度の変化の影響を受けにくい。またモーメントは波形データ全体の信号強度に基づいて計算されるため、ノイズの影響が平均化され、最小化される。

【0006】  $A$  と  $B$  の相互作用を、 $C$  が増強または減弱することを数値化しようとする場合にも、 $A$  と  $B$  の両者を含む試料について得た  $A$  の波形データと、さらに  $C$  を加えた試料について得た  $A$  の波形データについて、横軸の同一の領域内におけるモーメントをそれぞれ求め、その差によって、 $A$  と  $B$  の相互作用を  $C$  が増強または減弱する程度を数値化することができる。この場合にも、モーメントは波形データに含まれる信号強度の総量には依存しないので、 $A$  の濃度あるいは量が変化しても、結合平衡に影響を及ぼさない範囲であればモーメントは変化せず、 $A$  の濃度あるいは量についての実験誤差の影響を受けにくい。また、検出系の感度が測定毎に変化して信号強度の総量が変化しても、モーメントは変化しないので、測定系の感度の変化の影響を受けにくい。またモーメントは波形データ全体の信号強度に基づいて計算されるため、ノイズの影響が平均化され、最小化される。

【0007】 本発明の解析法の対象となる波形データとしてはスペクトル、電気泳動図、クロマトグラムなどが好適である。

【0008】

【発明の実施の形態】 本発明の波形データ解析法は、天然の、または人工的なタンパク質、酵素、ペプチド、核酸、ヌクレオチド、糖質、脂質、代謝中間体、シグナル伝達分子、ホルモン、その他の生体分子ならびにその類縁化合物間の相互作用解析に適用できる。また、上記の物質との結合性を検査しようとする化合物の相互作用解析に適用できる。

【0009】 本発明の波形データ解析法は、相互作用解析に分光吸光分析法、分光蛍光分析法、核磁気共鳴法など、さまざまな分光分析法が用いられた際に、得られたスペクトルのモーメントを求めることにより、相互作用によるスペクトル形状の変化を数値化することができる。ここにおいて、スペクトルの横軸の値とは波長であり、信号強度とは吸光度、蛍光強度などである。

【0010】 本発明の波形データ解析法は、相互作用解析にポリアクリルアミドゲル電気泳動、アガロースゲル電気泳動、セルロースアセテート膜電気泳動、キャピラリー電気泳動、チップ電気泳動などの電気泳動法が用いられた際に、得られた電気泳動図のモーメントを求め

ることにより、相互作用による電気泳動図の変化を数値化することができる。ここにおいて、電気泳動図の横軸の値とは、各移動度、泳動時間、泳動距離などである。また、電気泳動法に類似の方法として、質量分析法にも適用可能である。

【0011】 本発明の波形データ解析法は、相互作用解析にアフィニティークロマトグラフィー法、分子ふるいクロマトグラフィー法、イオン交換クロマトグラフィー法、疎水性クロマトグラフィー法などのクロマトグラフィー法が用いられた際に、得られたクロマトグラムのモーメントを求めることにより、相互作用によるクロマトグラムの変化を数値化することができる。ここにおいて、クロマトグラムの横軸の値とは、各溶出容積、溶出時間などである。

【0012】 分光分析法においては、スペクトルの測定を行おうとする分子又は分子集合体を色素あるいは蛍光色素で標識することにより、相互作用に基づく分光スペクトルの変化をより検出しやすくし、モーメントの変化による波形データ解析の適用性を高めることができる。

【0013】 電気泳動法あるいはクロマトグラフィー法においては、電気泳動図あるいはクロマトグラムを得るための検出法として、光吸収法、蛍光法、質量分析法、免疫化学的方法などを用いることができる。また、高感度な検出にはレーザー励起蛍光検出法も適している。また特定の分子または分子集合体を標識することにより検出の選択性を高めることもできる。これには放射性同位元素標識法、色素標識法、蛍光色素標識法、ビオチン標識法などがあげられる。

【0014】 標識に用いる蛍光色素としては、フルオレセイン類、ローダミン類、クマリン類、シアニン類、インドシアニン類、インドカルボシアニン類、ピロニン、ルシファーイエロー、キナクリン、スクエア酸、フルオロアンセニルマレイミド、アントラセン、BODIPY色素類やAlexa色素類 (Molecular Probes Inc., Eugene, Oregon, U.S.A.)、エオシン、エリスロシン、テキサスレッド、ピレン類などを用いることができる。

【0015】 結合反応を起こす物質がタンパク質やペプチドの場合には、標識はN末端のアミノ基、リシン側鎖のアミノ基、システインの側鎖のチオール基、チロシンの側鎖のフェノール基、ヒスチジンの側鎖のイミダゾール基、C末端のカルボキシル基、アスパラギン酸やグルタミン酸のカルボキシル基などに行いうる。核酸の場合には、5'末端、3'末端あるいは塩基部分に標識を\*

\*行いうる。糖の場合には、水酸基、アミノ基、カルボキシル基あるいは還元末端のアルデヒド基に標識を行いうる。脂質の場合には、その極性基部分に標識を行いうる。その他の低分子化合物の場合には結合反応に参加しない部分に標識を行うことができる。脂質複合体やタンパク質の場合には、標識分子の疎水的な性質を利用して非共有結合による標識も行いうる。

#### 【0016】

【実施例】 本発明の有用性を検証するために、蛍光性の分子または分子集合体であるAと、被検化合物である非蛍光性のBの相互作用による、Aの蛍光スペクトルの変化の解析例を以下に示す。解析例はシミュレーションによって得られたスペクトルデータを用いた。シミュレーション波形は次に示す方法によって得た。Aは、被検物質Bと数3の反応式によって複合体ABを生成するとし、この会合反応の結合平衡定数Kを $1.0 \times 10^6$  (1/mol)とした。Aの濃度は $0.8 \times 10^{-9}$  mol/lから $1.2 \times 10^{-9}$  mol/lの範囲で一定とし、Bの濃度が0 mol/l、 $2.50 \times 10^{-7}$  mol/l、 $6.67 \times 10^{-7}$  mol/l、 $1.50 \times 10^{-6}$ 、 $4.00 \times 10^{-6}$  mol/lと異なる5種の溶液を調製した。これらのBの濃度でのAの結合率はそれぞれ、0%、20%、40%、60%、80%と計算される。図1は、これらの試料溶液の蛍光スペクトルであって、301 nmから401 nmまでの波長領域において、1 nm刻みにA由来の蛍光の強度 (FI) を測定して得られたものである。すべてのAがBと結合した完全結合型の蛍光スペクトルを図1の結合率100%の波形データで示した。結合率100%のデータは、Bが無限量の濃度で存在するときに実現されるものなので、実際には得ることがむずかしい。20-80%の波形データは遊離型と結合型の波形データから、重み付き平均として計算されたものである。例えば結合率20%の波形データの場合には、結合率100%の波形データの各波長における蛍光強度を0.2倍し、結合率0%波形データの各波長における蛍光強度を0.8倍したのち、それらを各波長ごとに加えあわせることによって得られたものである。

【0017】 図1のデータは各試料中のAとABの総濃度が $1.00 \times 10^{-9}$  mol/lと一定であり、またすべての測定が一定の検出感度のもとで行われたと仮定した場合の結果である。このようなデータに対しては従来の解析法によって相互作用を数値化することができる。例えば、結合率0%のスペクトルは波長330 nm、350 nm、370 nmに極大値があり、それらの波長における蛍光強度の減少 ( $-\Delta FI$ ) は表1のようになる。

【表1】

[B] (mol/l)	0	$2.50 \times 10^{-7}$	$6.67 \times 10^{-7}$	$1.50 \times 10^{-6}$	$4.00 \times 10^{-6}$	$>1.00 \times 10^{-4}$
結合率 %	0	20	40	60	80	100
$-\Delta FI$ (330 nm)	0	0.00200	0.00400	0.00601	0.00801	0.01001
$-\Delta FI$ (350 nm)	0	0.00976	0.01951	0.02927	0.03903	0.04878
$-\Delta FI$ (370 nm)	0	0.00300	0.00600	0.00900	0.01200	0.01500

いずれの波長においても、蛍光強度の減少量は結合率の増加に比例しており、極大波長における蛍光強度の減少量をもって、相互作用を数値化できることが示される。図2のデータは、測定に供された試料中のAとABの総濃度にバラツキがあるが、すべての測定が一定の検出感度のもとで行われた場合の結果である。各試料のAとABの総濃度は、0 % (1.00E-9 mol/l)、20 % (1.20E-9 mol/l)、40 % (0.80E-9 mol/l)、60 % (1.20E-9 mol/l)、80 % (0.80E-9 mol/l)、100 % (1.00E-9 mol/l) として、各スペクトルは図1の各スペクトルの蛍光強度に次のかつこ内に示す係数を乗じて得られた。すなわち、0 % (X1)、20 % (X1.2)、40 % (X0.8)、60 % (X1.2)、80 % (X0.8)、100 % (X1)である。このようなデータに対して、上と同様に、蛍光極大波長における蛍光強度の減少量を求めると表2のようになる。

【表2】

[B] (mol/l)	0	2.50E-7	6.67E-7	1.50E-6	4.00E-6	>1.00E-4
結合率 %	0	20	40	60	80	100
-ΔFI (330 nm)	0	-0.00430	0.00990	0.00051	0.01311	0.01001
-ΔFI (350 nm)	0	-0.00166	0.02898	0.02176	0.04459	0.04878
-ΔFI (370 nm)	0	-0.00709	0.01549	0.00011	0.02029	0.01500

いずれの波長においても、蛍光強度の減少量と結合率の増加との間に相関が乏しく、Aの濃度がただか20 % 増減しただけで、スペクトルの極大値における蛍光強度の減少量をもって、相互作用を数値化しようとした場合には大きな誤差が含まれ、誤った結論に導かれる可能性が高くなることが示される。

【0018】 各波長xにおける蛍光強度をI(x) とすると、各スペクトルのモーメント M は次式によって表される。

※【数5】

$$M = \sum_{x=301}^{400} x \cdot I(x) / \sum_{x=301}^{400} I(x)$$

図2の各スペクトルのモーメントMと、結合率0 % のスペクトルのモーメントの差ΔM、を計算すると表3のようになる。

【表3】

※

[B] (mol/l)	0	2.50E-7	6.67E-7	1.50E-6	4.00E-6	>1.00E-4
結合率 %	0	20	40	60	80	100
M	352.609	364.252	355.895	357.538	359.182	360.825
ΔM	0	1.643	3.286	4.930	6.573	8.216

表3において結合率とΔMの間に、比例関係があり、従来の方法では数値化が困難な波形データであっても、モーメントによって相互作用を正確に数値化できることが明らかに示される。

【0019】 Bの無限大濃度に対応する波形データのモーメントの最大変化量をΔM<sub>max</sub>とすると、ΔMと[B]の間には、数4の関係が有る。結合平衡定数 K を求めるにあたって、数4の変形によって得られる直線式である数6を用いる線形プロットによる解析も可能である。

【数6】

$$\Delta M = \Delta M_{\max} - \frac{1}{K} \cdot \frac{\Delta M}{[B]}$$

このプロットでは、横軸にΔM/[B]、縦軸にΔMをとってプロットすることにより得られる直線の傾きからKを、縦軸との切片からΔM<sub>max</sub>が決定される。表3の結合率20 % から80 % までの4点について、ΔMをΔM/[B]に対してプロットした結果を図3に示す。この直線の傾きは1.0E-6 (mol/l) であり、Kは1.0E+6 (1/mol) と求められた。この値は、図2のスペクトルデータ

をシミュレーションした際に計算に用いた結合平衡定数の値1.0E+6 (1/mol) と正確に一致している。このようにして、任意の結合平衡定数について、その値を決定できることが示される。また、縦軸の切片より、モーメントの最大変化量が8.216であることが示され、この値は結合率100 % のΔMである8.216に正確に一致している。こうして、実験的に得ることが難しい複合体ABの波形データのモーメントも決定できることが示される。

【0020】

【発明の効果】本発明によれば、相互作用にともなう波形データが変化する場合に、測定分子または分子集合体の量のバラツキや、測定毎の検出器の感度の増減によって波形データの信号強度の総和が異なったりしても、波形データの変化から相互作用の程度を比較的簡単に、かつ正確に数値化し、また結合平衡定数を決定することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】「シミュレーションによって得た結合率の異なるAの蛍光スペクトル。スペクトルは1 nmずつ異なる波長における100個の蛍光強度の値よりなる。測定に供された試料中のAと複合体ABの総量が一定という、理

想的な場合を示す。」

【図2】「シミュレーションによって得た結合率の異なるAの蛍光スペクトル。スペクトルは1 nmずつ異なる波長における100個の蛍光強度の値よりなる。ここでは測定に供された試料中の物質Aと複合体ABの総量にバラツキがあるとして、図1に示した各スペクトルの信号強度に、次のかっこ内に示す係数を乗じてある。すなわち、0% (×1)、20% (×1.2)、40% (×0.8)、60% (×1.2)、80% (×0.8)、100% (×1) である。」

【図3】「図2の結合率20%、40%、60%、80%の各スペクトルのモーメントの変化量から結合平衡定数Kを決定するための直線プロット。」

【符号の説明】

1 A : 波形データの測定対象となる分子または分子集合体

2 B : Aと相互作用する分子または分子集合体

\* 3 C : AとBの相互作用を促進あるいは抑制する分子または分子集合体

4 AB : AとBの複合体

5 [A] : Aの濃度

6 [B] : Bの濃度

7 [AB] : ABの濃度

8 K : 結合平衡定数

9 M : モーメント

10  $\Delta M$  : 試料の波形データのモーメントと遊離型波

形データのモーメントの差

11  $\Delta M_{\max}$  : 完全結合型試料のモーメントと遊離型波形データのモーメントの差

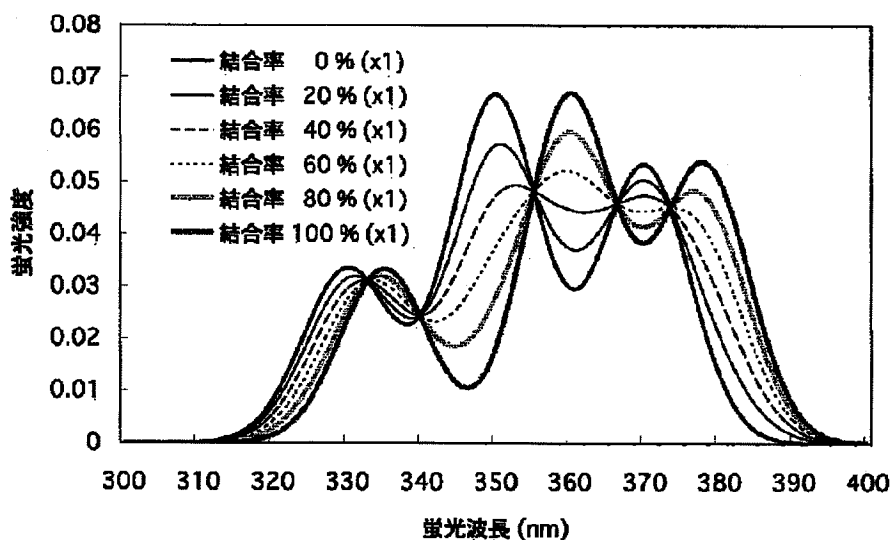
12 x : 波形データの横軸の値

13  $I(x)$  : 波形データの横軸の値xにおける信号強度

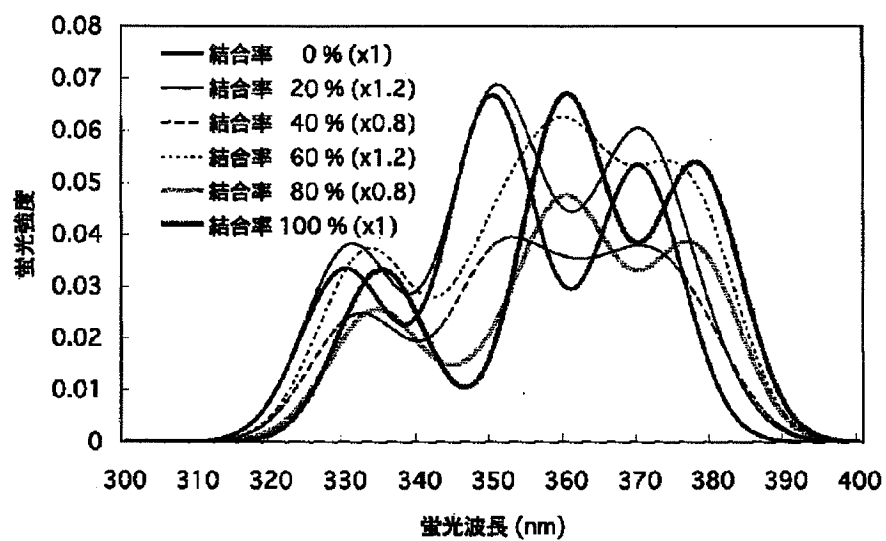
14 FI : 蛍光強度

15  $\Delta FI$  : 蛍光強度の減少量

【図1】



【図2】



【図3】

